

## A 群

ヒトゲノム配列上の SNP について、及び SNP 解析ビジネスの例について

## 1 SNP とその解析方法

ヒトゲノムの解読が進むことによって、私達の DNA の塩基配列は、同じ人であっても個人によってわずかずつ異なっていることが分かってきました。その個人差は、全ゲノム中の 0.1%、数百万箇所あるとされています。ゲノムの個人差にはいろいろなタイプがありますが、そのうち最も頻度が高く注目されているのが、たった一つの塩基が置き換わった SNP (single nucleotide polymorphism, 日本語では「1 塩基多型」という) です [1]。SNP は人が病気になりやすいかどうか、薬の効き目が良いかどうか、薬の副作用が起きやすいかどうかに大きな影響を与えていますので、あらかじめそういう SNP を調べておいて SNP の場所と機能を解明すれば、それぞれに合った薬の使い方ができるようになることが期待されています。しかし、人のゲノムの全体の中に 300 万から 1000 万箇所もあると言われていますが、今、それがゲノム上のどこにあるのかを調べる作業が急速に進んでいます。

SNP の従来の検出法として、**RFLP** (Restriction Fragment Length Polymorphism, 制限酵素断片長多型) 法が用いられました。RFLP とは、制限酵素によって切断された DNA 断片の長さが同一種内の個体間で異なることを検出手法です。しかし、RFLP 法の操作が煩雑で時間かかる上、SNP 部位近辺の塩基配列によっては解析不可能な場合が多いなど問題が指摘されてきました。

そこで、近年ではより便利で汎用性が高い手法として、**Invader 法**、**一塩伸長法**、**TaqMan PCR 法**などの解析方法が開発されました [2]。

1. **Invader 法**は DNA の標的部位とオリゴヌクレオチドで形成するフラップ構造を認識して切断して Cleavase を利用して蛍光シグナルを増幅する方法です。Invader 法の操作手順が簡便し、高い特異性による正確に解析できます。また、Invader 法は専用機器を必要としないため、設備投資にかかる初期費用が抑えられます。
2. **一塩伸長法** (Single Base Primer Extension) とは、テンプレート DNA の SNP 部位の特定の 1 塩基のプライマーと、蛍光標識した ddNTP を加えて 1 塩基の伸長反応を行うことにより、SNP 部位のターゲット塩基に対して相補的な ddNTP がプライマーに結合した蛍光標識された DNA 断片を作る手法です。一塩伸長法では 1 6 分間の泳動で複数の SNPs サイトを同時に検出することも可能なので、より多くの SNPs を短時間で検出することができます。
3. **Taqman PCR 法**は、PCR(Polymerase Chain Reaction) を用い、DNA のある一部分だけを選択的に増幅させ、定量解析によって閾値を超えた蛍光シグナルをリアルタイムで検出する方法です。従来の PCR は、サーマルサイクラー (プログラムにより加熱と冷却を周期的に行い DNA を増幅する PCR 装置) で目的 DNA を増幅した後、その増幅産物の解析にはアガロースゲルあるいはポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い、染色したものを紫外線で検出するという流で行います。一方、Taqman PCR 法では、蛍光シグナルが検出されるタイミングが試料中のターゲット核酸の量に依存しますので、その原理を利用してリアルタイムに蛍光シ

グナルを確認することでターゲット核酸の定量分析が可能になります。また、DNA の増幅と検出を一つのチューブ内で行い、リアルタイム PCR が反応後に煩雑なゲル電気泳動で増幅産物の確認を行う必要がありませんので、簡便、迅速に結果が得られます [3]。

近年、リアルタイム PCR を用いた SNP 解析は、多検体で多遺伝子の解析を必要とするケースが増えつつあります。多検体・多遺伝子の解析は、分注操作などの回数が増えてコントロールが煩雑になり、その影響で精度が低下、莫大なコストもかかってしまう傾向にあります。これらの問題点を克服するため、フリューダ임社は従来の定量 PCR システムの限界を突破し、集積流体回路利用した次世代リアルタイム PCR システム **BioMark System** を開発しました。このシステムは 9216 反応を一度に解析でき、試薬コストがかなり低下し解析精度も大幅に向上しました。

## 2 SNP 解析ビジネスの例

SNP 解析を用いるビジネスで最も盛んで行っているのは、創薬とオーダーメイド医療です。従来の新薬開発では、莫大なお金と時間を投入しなければいけない、新薬が出来上がっても、誰にでも同じように効くとは限りません。しかし、SNP 解析によって、創薬標的分子を調べ、それらをターゲットすると効率よく新薬を開発するのは可能になります。

一方、SNP 解析を用いて患者個人の体質や遺伝的特徴を充分考慮したうえで、オーダーメイド医療も実現できます。SNP の診断によって、治療と費用対効果の両方の面で有効性があるかどうかを証明する必要があります。ネビラピン [4] に対する研究では、SNP の診断を行うことで 1 病院当たりの医療費が年間約 6 万ドル (約 500 万円) も削減できます。

SNP 解析方法の進化に伴い、個人向けの遺伝子解析サービスの提供も可能になってきます。この業界をリードするのは、米国にて 2006 年 4 月に設立した "23andMe" 社です。"23andMe" 社は最先端な SNP ジェノタイピング技術を利用し、遺伝子検査サービスを提供しています。自分の遺伝情報を知りたいユーザーは、オンラインで検査キットを購入 (399 ドル/回) し、送られてきたきつとを用いて、口腔内のつばをチューブに入れ、キットを送り返すれば、4~6 週以降に特定疾患に将来罹るリスクや薬に対する副作用のリスクのどの自分の遺伝情報を見えます。

## 参考文献

- [1] 京都大学 加藤研究室 <http://www.zinbun.kyoto-u.ac.jp/~kato/atgenome/index.html>
- [2] Wikipedia 「1 塩基多型」 <http://ja.wikipedia.org/wiki/%E4%B8%80%E5%A1%A9%E5%9F%BA%E5%A4%9A%E5%9E%8B>
- [3] リアルタイム PCR : その原理と特徴, 小島 夫美子; 岩谷 良則; 藤本 秀士 (2003-09), 九州大学医学部保健学科紀要 vol. 2 p. 95-102
- [4] 独立行政法人 理化学研究所, RIKEN NEWS 7 No.361 July 2011